



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی قزوین

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی فیلم نانوسلولز حاوی پُست بیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در بسته بندی فعال گوشت چرخ شده گاو

استاد مشاور:
دکتر پیمان قجریگی

استاد راهنما:
دکتر رزاق محمودی

مشاور آماری:
دکتر علیزاده

دانشجو:
نسیم انصاری
دانشجوی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی
دی ماه - ۹۸



بیان مسئله و مقدمه

- ✓ گوشت قرمز به دلیل ویژگی های فیزیکی و شیمیایی (pH, Aw و مواد مغذی) حساس به فساد میکروبی است.
- ✓ به دلیل عدم فرآیند حرارتی اطمینان از آلودگی میکروبی در گوشت چرخ شده حاصل نمی شود.
- ✓ حضور باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان فلور میکروبی طبیعی در انسان و حیوان و یا ناشی از آلودگی ثانویه در گوشت چرخ شده و نیز تولید سم آنتروتوکسین توسط آن منجر به ایجاد مسمومیت می گردد.
- ✓ بسته بندی گوشت چرخ شده به دلیل ماندگاری کوتاه همواره یکی از چالش های صنعت غذا است.
- ✓ برای کنترل عوامل بیماری زا و اطمینان از کیفیت میکروبی و شیمیایی گوشت استفاده از بسته بندی ضد میکروبی (فعال) در حال توسعه است.
- ✓ پُست بیوتیک ها مواد ضد میکروبی طبیعی حاصل از باکتری های پروبیوتیک است که می تواند در بسته بندی فعال مورد استفاده قرار بگیرد.
- ✓ مواد اولیه گیاهی تجدید پذیر مانند سلولز به دلیل غیر سمی بودن، پایداری و ویژگی مکانیکی خوب میتواند در بسته بندی مورد استفاده قرار گیرد.



اهداف پژوهش

هدف کلی:

تعیین خاصیت ضد میکروبی فیلم نانوسلولز حاوی پُست بیوتیک
لاکتوباسیلوس رامنوسوس در بسته بندی فعال گوشت چرخ شده گاو



اهداف پژوهش

اهداف اختصاصی:

- ۱- تعیین غلظت‌های بهینه پُست بیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس
- ۲- تعیین اثر ضدباکتریایی نانو کامپوزیت فاقد پُست بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن
- ۳- تعیین اثر ضدباکتریایی نانو کامپوزیت با غلظت‌های بهینه از پُست بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن
- ۴- تعیین اثر مهاري نانو کامپوزیت فاقد پُست بیوتیک علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت چرخ شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد
- ۵- تعیین اثر مهاري نانو کامپوزیت با غلظت‌های بهینه از پُست بیوتیک علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت چرخ شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد



فرضیات پژوهش یا سوالات پژوهشی

۱- چه غلظت‌هایی از پُست‌بیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس اثر مهاری دارند؟

۲- اثر ضدباکتریایی نانوکامپوزیت فاقد پُست‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن علیه استافیلوکوکوس اورئوس چه میزان است؟

۳- اثر ضدباکتریایی نانوکامپوزیت با غلظت‌های بهینه از پُست‌بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن علیه استافیلوکوکوس اورئوس چه میزان است؟

۴- اثر مهاری نانوکامپوزیت فاقد پُست‌بیوتیک علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت چرخ شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به چه صورت است؟

۵- اثر مهاری نانوکامپوزیت با غلظت‌های بهینه از پُست‌بیوتیک علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت چرخ شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به چه صورت است؟



مقدمه

سابقه تحقیق

مواد و روش ها

نتایج و بحث

نتیجه گیری

پیشنهادهات



مروری بر مطالعات و متون گذشته

نتیجه

فیلم ضد میکروب

یافته ها

سال

محققین

کاهش ۱/۴ سیکل لگاریتمی
بار میکروبی لیستریا مونوسایتوزنز

فیلم خوراکی WPI حاوی پالیده ساکای
علیه اشرشیاکلائی و لیستریا مونوسیتوزنز
در گوشت گاو نگهداری شده در یخچال

۲۰۱۷

لوپز و همکاران

کاهش ۱/۵ سیکل لگاریتمی بار
میکروبی لیستریا اینوکوا

فیلم پلی اتیلن حاوی ساکاسین A استخراج
شده از پالیده لاکتوباسیلوس ساکای علیه
لیستریا اینوکوا در ورقه های گوشت کارپاکیو
نگهداری شده در یخچال

۲۰۱۶

باریلوری و همکاران

لیستریا مونوسایتوزنز کنترل شد

پست بیوتیک (باکتریوسین ها و اسیدهای آلی)
سه باکتری لاکتیک اسید به عنوان افزودنی
بی خطر در مواد غذایی برای کنترل عوامل
بیماری زا در گوشت و شیر

۲۰۱۹

مرادی و همکاران



مقدمه

سابقه تحقیق

مواد و روش ها

نتایج و بحث

نتیجه گیری

پیشنهادهات



مروری بر مطالعات و متون گذشته

محققین	سال	یافته ها	ضدمیکروب	نتیجه
کوهستانی و همکاران	۲۰۱۷	پالیده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس		پالیده حاصل از این سویه ها به عنوان ترکیبات ضدمیکروبی و حذف بیوفیلم برای کنترل رشد پاتوژن ها
لوپز و همکاران	۲۰۱۶	فیلم های ایزوله پروتئین آب پنیر و کلسیم کازئینات حاوی پالیده لاکتوباسیلوس رامنوسوس علیه لیستریا مونوسیتورنز اسکات A، استافیلوکوکوس اورئوس، اشیشیا کلای و سالمونلا تیفی موریوم		جایگزین مناسبی برای تولید فیلم های ضد میکروبی طبیعی
مارکس و همکاران	۲۰۱۶	تاثیر فیلم تخریب پذیر با متابولیت های ضدمیکروبی تولید شده توسط لاکتوباسیلوس کارواتوس بر لیستریا مونوسیتورنزها در پنیر بریده شده Prato		فیلم های با حداقل غلظت باکتری کشی قادر به کنترل لیستریا مونوسیتورنز اسکات A در پنیر شد.

ارزیابی خاصیت ضدمیکروبی فیلم نانوسلولز حاوی پُست بیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در بسته بندی فعال گوشت چرخ شده گاو ۷



جمع بندی و نتیجه گیری بیان مسئله

✓ در صورت وجود بسته بندی فعال بیولوژیکی حاوی ماده ضد میکروبی می توان عوامل بیماری زا و آلودگی میکروبی را در گوشت کنترل و از کیفیت میکروبی و شیمیایی آن اطمینان حاصل کرد.

✓ رویه های عاری از سلول زنده باکتری پروبیوتیک مانند لاکتوباسیلوس رامنوسوس (پالیده) در واقع نوعی پست بیوتیک است که متابولیت های قوی علیه پاتوژن ها تولید و فساد و بیماری زایی را به تاخیر می اندازد. بنابراین استفاده از آن در بسته بندی فعال به عنوان ضد میکروب طبیعی انتخاب مناسبی به نظر می رسد.

✓ سلولز به عنوان یک ماده غیر سمی، زیست تخریب پذیر و تجدید پذیر شناخته شده است. با اصلاح این نانوساختارها توسط انواع ترکیبات به ویژه مواد ضد میکروب مانند پست بیوتیک ها، ساختمانی فشرده، متراکم و منظم بدست می آید که هدف ما در بسته بندی فعال است.

مواد و روش کار

✓ نوع مطالعه : آزمایشگاهی

✓ مکان پژوهش : آزمایشگاه ایمنی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

✓ جامعه پژوهش : گوشت چرخ شده گاو تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس به میزان

۱۰^۷ CFU/ml

نمونه ها و روش نمونه گیری و فرمول نمونه گیری :

۱- نمونه گوشت واجد استافیلوکوکوس اورئوس بدون پوشش (کنترل)

۲- نمونه گوشت واجد استافیلوکوکوس اورئوس با فیلم نانوسلولز

۳- نمونه گوشت واجد استافیلوکوکوس اورئوس با فیلم نانوسلولز حاوی غلظت بهینه اول از

پُست بیوتیک

۴- نمونه گوشت واجد استافیلوکوکوس اورئوس با فیلم نانوسلولز حاوی غلظت بهینه دوم از

پُست بیوتیک



مواد و روش کار

آنالیز آماری

با توجه به مطالعات پیشین در مجموع ۴ نمونه (تعداد نمونه ها ۳ فیلم به عنوان تیمار و ۱ فیلم به عنوان شاهد) در نظر گرفته می شود. همه ی آزمون ها در ۳ تکرار انجام می شود. تحلیل واریانس با اندازه های تکراری در سطح معنی دار $p < 0.05$ صورت خواهد گرفت.



مواد و روش کار

ابزار گردآوری داده ها: ✓

- تهیه لیوفیلیز باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس از شرکت تک ژن زیست
- تهیه فیلم نانوسلولز باکتریایی سنتزی از شرکت نوین پلیمر
- تهیه گوشت گاو از کشتارگاه زیاران

مواد و روش کار

✓ خصوصیات ضد میکروبی: پست بیوتیک با غلظت های بهینه تهیه و به صورت غوطه وری معمول برای تهیه فیلم ضد میکروب مورد استفاده قرار می گیرد. بررسی خصوصیات ضد میکروبی این فیلم علیه استافیلوکوکوس اورئوس به روش دیسک دیفیوژن انجام خواهد شد (۱)(۳).

✓ بررسی خصوصیات فیلم تهیه شده:

با استفاده از طیف سنجی (FTIR) و بررسی خصوصیات فوق ریزینی (SEM) انجام خواهد شد (۲).

✓ ارزیابی اثرات ضد میکروبی فیلم تهیه شده بر گوشت:

فیلم با غلظت های بهینه، سطح گوشت چرخ شده گاو تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس پوشانیده و در دمای نگهداری ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۹ روز و شمارش این باکتری در فواصل زمانی (۰، ۳، ۶، ۹) با استفاده از محیط کشت اختصاصی بر دپارکر آگار برای استافیلوکوکوس اورئوس طبق استاندارد ملی ایران شماره ۶۸۰۶ انجام خواهد شد (۱)(۳).



مراحل پژوهش

تهیه لیوفیلیز باکتری لاکتیک اسید

آماده سازی و کشت در محیط مخصوص مایع

سانتریفیوژ و جداسازی مایع رویی آن

انجماد و خشک کردن انجمادی مایع رویی

تهیه غلظت های بهینه و افزودن آن به فیلم نانوسلولز و خشک کردن فیلم ها

تعیین اثر ضد باکتری این فیلم ها به روش دیسک دیفیوژن

1

تلقیح استافیلوکوکوس اورئوس به گوشت چرخ شده گاو

بسته بندی گوشت تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس با فیلم های تهیه شده

نگهداری آن به مدت ۹ روز در یخچال

اندازه گیری مهار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

2



ملاحظات اخلاقی

✓ نام فروشندگان مواد مصرفی در این مطالعه محرمانه خواهد ماند.



محدودیت ها

✓ فقدان برخی از دستگاه ها و مواد اصلی مورد نیاز در انجام این مطالعه



منابع

- 1) Antimicrobial activity of whey protein films supplemented with *Lactobacillus sakei* cell-free supernatant on fresh beef, Beristain-Bauza ,2017
- 2) Development of bacterial cellulose based slow-release active films by incorporation of *Scrophularia striata* Boiss. Extract , Sukhtezari. Shokoofeh, 2017
- 3) Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models , moradi.mehran , 2019

سپاس از توجه شما

